⑩日本国特許庁(JP)

10 特許出願公開

⑫公開特許公報(A)

平3-38587

@Int. CI. 5

識別記号

庁内整理番号

❸公開 平成3年(1991)2月19日

C 07 D 487/22 B 01 J 31/22

Z

6939-4G

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全13頁)

❷発明の名称

酸化反応を触媒する標識化合物

②特 頗 平1-171372

②出 頤 平1(1989)7月3日

@発明者

上 野

景 平

熊本県熊本市水前寺公園25-39

@発明 者

12 尺

文雄

熊本県熊本市池田3丁目1343-7

@発明者

志智

匡 宣

熊本県熊本市小山町1226-39

勿出 願 人 株式会社同仁化学研究

熊本県熊本市健軍町2861番地

所

Best Available Copy

明 權 復

1. 発明の名称

飲化反応を触媒するはほ化合物

2. 特許請求の範囲

一般式、Zー【XーレーY】n(nはOから 4までの豊敬)で扱される金属類体化合物。

ここででは下記ポルフィリン骨格を有する金属 類体を表す。

上記構造中、 $A\sim D$ は、それぞれ独立に SP^2 以 最または豊富を表す。型泉基 $R^1\sim R^8$ は、それ ぞれー(C H) $_K$ - E L、または、-(C H= C H) $_K$ - E L (K LOまたは1、 R LはHまたはOH、 EはH、 C CHO、 C O2H、 C SO3Hのいずれか を扱し、またR、区はそれぞれ一般式中のXと結合してもかまわない。)のいずれかである。また、 R^1-R^2 、 R^3-R^4 、 R^5-R^6 、 R^7-R^8 はそれぞれピロール似に組合したベンゼン似でもかまわない。

つぎに、メソ位置換載R_A~R_Dはつぎの3つ のうちから選ばれる。

$$\underbrace{\overset{\mathsf{T}^1}{\overset{\mathsf{T}^2}{\overset{\mathsf{T}^2}{\overset{\mathsf{T}^3}}}}}_{\mathsf{T}^3}$$

($T^{-1} \sim T^{-5}$ はそれぞれ、H、Aロゲンまたはアルキル毎であり、そのうち1つは一層式中のXと結合してもかまわない。)

(GはOまたはSを表す。 $T^6 \sim T^8$ はそれぞれ H、ハロゲン、またはアルキル基でありそのうち 1つは一段式中のXと結び、もかまわない。

 $(T^9 \sim T^{13}$ はそれぞれ H 、 ハログンまたはアルキル基でありそのうち 1 つは一股式中の X と結合してもかまわない。また Q はハライドアニオン、 $CH_3SO_4-.OSO_2CP_3-.OSO_2P_-$ または OSO_2-CH_3 のいずれかを扱している。)

つぎに金以Mはドゥ、Cr、Mn、Co、Ni、 Cu、Zn、Mo、Cd、Osのいずれかである。 メはポルフィリン付格とスペーサーしとの結合 部分でありつぎのなかから選ばれる。

- N H C O - , - C O N H - , - N H S O 2 - ,
- S O 2 N H - , - C O O - , - O C O - ,
- C H 2 - , - C H = C H - , - O - , - S - ,
- C O - , - C S - , - N H - , - N = C H - ,
- C H = N - , - C = N H , - C = N O H

型があり、放射性同位元素を用いないラベル化法の開発が積極的に検討されている。 すでに蛍光色 常を導入したものやベルオキシダーゼ等の酵素を 導入し、酸化発色体素あるいは化学発光で検出するシステムなどが分裂されている。 しかしながら、これらのシステムは従来の放射性同位元素を削いるものに比べて簡便さに欠ける、あるいは酵素を ラベルした場合保護体の性質が変化するなどの点において改良の命地がある。

すでに非放射性質位元素模様用のDNAプロープ作成キットが放社から出されている。これはデオナンを用いた固接機嫌で行い、ペルオキシダーゼあるいはアルカリホスファを検出しDNAでは、カーブとしかミノールー通像化水素で生の大学発出するものなどである。得られるとのようは、DNA量を提供のものと比較して発酵を対している。ペルオキシダーはそれ以上の感度を有している。ペルオキシダーはそれ以上の感度を有している。ペルオキシダー

しは介備基Y を結ぶスペーサー部分でありー(CH) $_{\rm RI}$ - 、 - (CH $_2$ CH $_2$ O) $_{\rm m}$ - またはー(OCH $_2$ CH $_2$) $_{\rm m}$ - のいずれかである。(ここでRはHまたはOH、 mはOから10までの意及である。)

Yはタンパク質または核酸と共有結合する官僚 基または共有結合する官僚基に変換しうる基である。

3 発明の詳細な展明

本発明は、核酸やタンパク質の化学発光による 数量検出のための新規ポルフィリン金属類体化合 物に関するものである。分子生物学における核酸 やタンパク質などを取り扱う各種実験におい 現在、32Pや35Sなどの放射性関位元素はこ うした生体成分のラベル化に欠かせないものとなっている。これらの放射性関位元素はラベルした 化合物の性質がほとんど変化しないことと、長時 関税算することにおり低めているが、人体や環境に を含むことにおいて優れているが、人体や環境に をはす金数性や得られたラベル体の不安定さに

ゼの場合にはエンハンサーを用いて感度を向上させている。

現在、化学発光をDNAアローブに応用しているシステムとしては、ベルオキングーゼを見れるには、ベルオキングーゼを見なせるには、水ので発光をなける。これはベルオキングーゼをおいて、できない。これはベルオキングーゼをおいり、アミンに固定したものをさらにDNAでは、値段体の分子及が数万以上と大きく、比較的知いDNAアラグメントをアローブとする場合には、のことは非常に不利である。よのでは、のことは非常にが不安定であり長期間の保存に耐えない点も関盟となる。

以上のことから、すでに実用化されているシステムに代わる新組なDNAプローブの開発を行う必要があり、高感度分析が可能と思われる化学発光を利用したDNAプローブの研究を行い今回、個便にラベル化でき、分子盤が小さく、しかも安定な機能体が得られる新規ポルフィリン会異類体

化合物を開発するに至った。 れら化合物を用い、 切られたDNAプローブをドットハイブリダイゼーション及び、サザンハイブリダイゼーションは 使用し、生じた化学発光を写真フィルムで検出し 良好な結果を得た。この化学発光はフォトンカウンター等を用いて計器しても関係な結果が得られる。また、これら化合物を環境に用いるシステムは辞報をまったく使用しない点にあり、したがっては辞報をよったく使用しない点にあり、したがって、環境体は長期間安定でありキット化する場合に はずるため辞報と比較してその分子量が必要は とから核酸やタンパク質の性質に及ぼす影響が少ないといった特徴がある。

本発明化合物で抵抗した化合物は過酸化水素、 過ほう酸イオン、または酸素が物質を酸化する反 応を触媒する。従って、この本発明化合物で振騰 した化合物は、過酸化水素、過ほう酸イオンある いは酸素の存在下で化学免光抗素、酸化発色試験 を表れたさせることにより生じる、化学発光ある

ド、ジイソシアナト化合物等の二官能性試出を別いる。以下、一定技ポルフィリン誘導体、四型技ポルフィリン誘導体、四型技 ポルフィリン誘導体、一型技フタロシアニン誘導体、四型技フタロシアニン誘導体に分類し、それ ぞれ実施例を挙げ詳細に設明する。

一直技术ルフィリン誘導体の一般的合成法

できる。木晃明化合物が触 いは色帯やとして 以する代表的な化学死光試蔵としては、ルミノー ル誘導体が挙げられ、酸化発色は高としてはアニ リン系誘導体が挙げられる。また被係強化合物と しては生体関連物質である核酸、タンパク質また はオリゴペプチドなどが挙げられる。本見明化合 物は一般に水系の溶媒を用いて被媒体化合物と反 応させる。官権基の種類によりDCC(ジシクロ ヘキシルカルボジイミド)、WSC(水溶性カル ボジイミド: ジメナルアミノアロヒルエナルカル ボジイミド塩酸塩)等の節合剤を用いる場合もあ る。本先明に使用されるポルフィリン系金属指体 は上紀化合物に限定されるものではなく 2 種類以 上を使用することもできる。本発明化合物は観点 官候群を打し、これにより目的とする観機機化合 特と直接またはスペーサーを介して結合する。ス ペーサーとしては末端ジアミノアルキル、アミノ カルボン酸、ジホルミル化合物、ジカルボン酸、 ジカルボン酸クロリド、ジハロゲン化アルキル、 キノンフェニレンジアミン。ジスルホン酸クロリ。

あるいはクロロホルム等に溶解し不溶物を除いたのち、一般にシリカゲルカラムクロマトグラルクラスクロマトグルカラムクロマトグルルカラムクロマトグルルフィリン誘導ルでは、特別の金属性の金属性の金属性の金属性の一般に変更しては一般では、大力の一般に変更である。とリジン等の一般に変更を受ける。というないは可能品し置後ボルフィリン結体を合成する。

分子内置換載Rはそのまま、もしくは任意の官 協載に欠換した後、一般構造式中のYとしての官 るか、あるいは、そのまま、もしくは任意の用官 造が、あるいは、そのまま、もしくは任意の の形式中のXーしの形成に必要 なは、一般構造で反応している。 なは、一般構造ででしたがあります。 なは、ただし、テトラピリジルボルフィ リンの場合は等モルのは、ことにおいましたが カゲルカラムクロマトグラフで超しまれる。 カゲルカラムクロマトグラフで超しまれる。 の場合 一変換ボルフィリン誘導体を合成する。その場合 の登技基系も同様にその 、 あるいは任意の官 健基に変換して一般構造中の Y あるいは X ~ L の 形成に用いる。関係を導入した場合、その末端官 健基は、そのまま、もしくは任意の官僚基に変換 して一般構造中の Y とする。

一度構造式中のXーレーYについては、そのう ちの取材について実施例の項で詳細を配す。

以下に合成した新規ポルフィリン類体化合物の 一部を示す。

a - (4 - アミノエチルカルバモイルフェニル) - β、γ、8 - トリフェニルポルフィナトFe (里)な鉄色結晶

α - (4 - アミノエチルカルバモイルフェニル) - B , γ , δ - トリフェニルポルフィナトC u (I) 紫色結晶

a - (4 - アミノエチルカルバモイルフェニル) - β . γ . 8 - トリフェニルポルフィナトC o (II)衆色結晶

α - (4-アミノエチルカルバモイルフェニル) - β . γ . δ - トリフェニルポルフィナトΖ n

モイルフェニル) - 8 . ァ . 8 - トリフェニルポ

ルフィナトCr(目)骨類色結晶

α- (4 - ホルミルプロピルアミドエチルカルバ モイルフェニル) - β、 ア、 8 - トリフェニルポ ルフィナト O s (B) 風青色結晶 α- (4 - カルボキシフェニル) - β、 ア、 8 -トリフェニルポルフィナトドε (B) 紫色結晶 α- (4 - カルボキシフェニル) - β、 ア、 8 -トリフェニルポルフィナト C r (B) 青色結晶 α- (4 - カルボキシフェニル) - β、 ア、 8 -トリフェニルポルフィナト C o (I) 青紫色結晶 α- (4 - カルボキシフェニル) - β、 ア、 8 -トリフェニルポルフィナト C n (I) 紫色結晶 α- (4 - カルボキシフェニル) - β、 ア、 8 -トリフェニルポルフィナト C n (I) 紫色結晶

α- (4-アミノフェニル) - β, γ, δ-トリフェニルポルフィナトMn (I) 紫色結晶 α- (4-アミノフェニル) - β, γ, δ-トリ

フェニルボルフィナトドe(目)素色結晶

フェニルポルフィナトZn(目)貞素色結晶

 $a - (4 - T \in J \supset x = N) - \beta$, r, $\delta - F \cup J$

(1) 存案色結

a - (4 - イソシアナトプロピルカルバモイルフェニル) - β. r. & - トリフェニルボルフィナト Fe (I) 以鉄色結晶

α- (4-イソシアナトプロピルカルバモイルフェニル) - β, γ, β-トリフェニルポルフィナトCr (目) 存紫色紡品

α- (4-イソシアナトプロピルカルバモイルフェニル) - β. γ. 8-トリフェニルボルフィナト M n (VI) 禁色結晶

α - (4 - ホルミルブチルアミノフェニル) - β , ァ , δ - トリフェニルポルフィナト P e (目) 費 紫色結晶 ...

 $\alpha = (4 - \pi \nu \in \nu \forall f \nu T \in J \forall z = \nu) - \beta$. r. $\beta = F \forall J z = \nu \pi \nu \forall f \in A$ 紫色新品

α- (4-ホルミルプロピルアミドエチルカルバ モイルフェニル) - B , ァ , δ-トリフェニルポ ルフィナトΡ e () 分素色結晶 .

α-(4-ホルミルプロピルアミドエチルカルバ

フェニルポルフィナトCo(目) 引装色結晶 αー(4 - (4 - ニトロフェニルオキシカルボニ ル)フェニル) - B , ア , さートリフェニルボル フィナトPe(目) 以労色結晶

α - (1 - クロロカルポニルフェニル) - β , ァ , δ - トリフェニルポルフィナト P e (E) 青紫色 結晶

α - (1 - クロロカルポニルフェニル) - β . γ . δ - トリフェニルポリフィナト Z n (I)衆色結 di

α - (4 - スクシンイミジルオキシカルポニルフェニル) - β , ァ . δ - トリフェニルポルフィナトド c (II) 介銀色紡品

αー(4ースクシンイミジルオキシカルボニルフェニル)ーβ、τ、δートリフェニルボルフィナ ト M n (E)紫色結晶。

 $\alpha - (A - .(N - \forall 2)))$

チル)ビリジル 1 - 8. r. トリス(4 - ピリジル)ボルフィナトド e (目) 存業色結山
α - 14 - (N - サクシンイミドキシボルミルエナル)ピリジル 1 - 8. r. δ - トリス(4 - ピリジル)ボルフィナト C d (I) 転色結晶
α - 13 - アミノ(2 - チェニル) 1 - 8. r. 8 - トリス(2 - チェニル)ボルフィナト F e
(E) 温食色結晶

α- 13- アミノ (2- チエニル) 1 - β. r. 8- トリス (2 - チエニル) ポルフィナト M o (V) 代発性結晶

以下に、突縮例を挙げてより詳細に説明する。 変数例 1

1-1.α-(4-アミノエチルカルバモイルフェニル)-β、γ、δートリフェニルポルフィナトFe(量) 1の合成

島水酢酸11.3gとプロピオン酸200ml

れた個体を乾燥し、化合物上を得た。

1-2. 化合物1で爆雑したDNAの化学児光法による検出(1)

スファージDNA(Hind Iで切断)(以下、
スファージDNAとする)10μ8/20μ1水
溶液、2.5×10⁻⁴ Mの化合物上を8μ1、
及び0.05%のグルクルアルデヒド3μ1を限
合し、溶液量を50μ1とし42℃で10分間反応させ、DNAを燃業した。反応後、エタノール
100μ1および3M酢酸ナトリクム(PH5)
水溶液5μ1を加え、ドライアイス中で1時間冷
即し生じた低減DNAの状態を温心分離により回
収した。得られたペレットを水50μ1に溶解し、
造心分離して上流をとりDNAプローブ溶液とした。

ニトロセルロースフィルター上に、スファージ DNA量が10pg、100pg、1ng、10 ng、100ngとなるようにスポットし核圧下 80でで焼き付けることにより固定した。このフィルターをヒートシールバッグに入れ、プレハイ にイーカルポキシベ プルデヒド3.75k. ベンズアルデヒド7、96gを加えし20℃で加 故しながら、ピロール6、71gを10分かけて 適下した。適下後、2時間120℃で競技した後、 盗当にて放冶し減圧減額した。得られた固体はシ リカゲルカラムクロマトグラフ(展開治路: 2% メタノール+1%酢酸/クロロホルム)により積 競した、このα-(4-カルボキシフェニル)β. τ. δートリフェニルポルフィン20О m в を800m1の酢酸に溶解し、塩化第二鉄6水和 物90mgおよび塩化水銀5mgを加え120℃ で16時間加熱限律した。政治後生じた結晶をデ 取し酢酸で洗浄し乾燥した。このαー(4ーカル ボキシフェニル)ー8、ァ、ォートリフェニルポ ルフィナトPe(E)ISOmg、およびエチレニ ンジアミン塩酸単2、13gをTHF:Hっ〇m 1:1の混合溶化15mlに溶解しWSC3.1 0 gを加え塩温で24時回機拌した。反応混合物 を顕縮し投去をO. INのNaOH水溶気20m ! に無滑し、沈政物を滅沈により分離した。得ら

プリダイゼーション銀街板2mlを加え、42での水浴中で2時間、ついでこの銀街板に作成したDNAプローブ10μlを加え、16時間インキュベートした。つぎに、1.7×10 MM ほう酸、从び、ルル、10mM KOH、5mM ほう酸、从び、ル酸化水粉0.05%を含む溶液にハイブ。リグイゼーションしたニトロセルロースフィルターを浸し、直ちにアラスチックに収化学ランカットフィルムに写した。インスタントフィルムに写した。インスタントフィルムに写した。インスタントフィルムに写した。インスタントフィルムに写した。インスタントフィルムに写した。インスタントフィルムに写した。インスタントフィルムはボラロイド社の612フィルム(1SO2の、000)を用い、露光時間は10分間とした。現像した結果、スポットしたDNA最は10pg

1-3. 化合物1で以降したDNAの化学発光法による検出(2)

実施例 1 - 2 においてハイブリダイゼーション 使のニトロセルロースフィルターを各スポット年 に切断し、それぞれのフィルターを発光数(組成 は実施例 1 - 2 と同様)に接し、1 分後にその化 学先光をフォトンカウン (紙松ホトニクス社製)を削いて10分間計割した。その結果、10pgのDNAを検出できた。

実施例2

2-1. α- (4-イソチオシアナトエチルカル バモイルフェニル) - β, ァ, δ-トリフェニル ポルフィナトFe(目)2の合成

二酸化炭出100mg、トリエチルアミン1m 1,を混合し、これに実施例1で合成した、αー (4ーアミノエチルカルバモイルフェニル)ータ, 7、8ートリフェニルポルフィナトドe(量)の 枯品100mgを1mlの下刊Pに溶解し、0℃で加えた。30分假存後、生じた沈級を評かしたので加えた。20分假存後、生じた沈級を評かしたがした。これをクロロホルム8mlに溶かしたがした。これをクロロホルム8mlに溶がしたがした。クロロボルムの1mlを加え1時間反応させた。クロロボルムをロロボルム4を3M塩酸で洗浄し、クロロホルムを留けた。2を得られた結晶をシリカゲルカラムクロマトグラフ(通過溶媒:降酸エチル)により精製し、化合物2を得た。

実施研3

3-1 . $\alpha-(4-T \in J$ エチルカルバモイルフェニル) $-\beta$. τ . $\beta-$ トリフェニルポルフィナト C o (1) 2 の合成

実施例1と内様の操作で合成した。但し、金賞 単として塩化コバルト(II)を用いた。

3 - 2. 化合物 3 で機関した DNAの化学発光後による検出

実施例1と同様の操作により入ファージDNA を用い化合物2で爆雑した。また、検出法もルミノールを用い実施例1と同様に行い、標準DNA を用いて入ファージDNA 量10 psを検出できた。

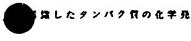
夹施例4

4-1. $\alpha-(4-4 y + オシアナトエチルカル バモイルフェニル) <math>-B$. τ . $\delta-$ トリフェニル ポルフィナトCu (I) 4 の合成

実施例2と同様の操作で含成した。但し、金属 塩として塩化酢二粥を用いた。

4-2. 化合物4で抵抗したタンパク質の化学発

2-2. 化合物 光による検出



ヒト血消アルプミン(HSA)5.0mgを含 むp H 7. 2のりん酸級低級1mlに1mgの化 ☆知2をDMSOl00μlに窓かして加え、窓 当で1時間裂とうしHSAを採集した。これはセ ファデックスG50により桁製し破枯乾燥し、p 月7. 2のりん触線街施1mlに溶解した。96 穴マイクロタイターアレートにそれぞれ、1p8、 10pg, 100pg, 1ng, 10ng, 81 び100mgの機線川SAが含まれるように上記 溶液を入れ、全量が100μlになるようにρH 7. 2のりん酸緩循液をそれぞれ加えた。つぎに、 $3.4 \times 10^{-5} \text{ M} \text{ N} > 1.4 \times 10^{-5} \text{ M}$ 10mmほう酸、0.01%過酸化水霜を含む液 液100μ1を加え、生じた化学洗光をインスタ ントフィルムに写しとった。インスタントフィル ムはボラロイド社の612フィルムを用い、電光 時間は10分間とした。現像した結果、複雑HS A 単1pgを検出できた。

光法による検出

実施例 2 と同様の操作により II S A を用い化合物 4 で標識した。また、検出法 6 ルミノールを用い実施例 2 と同様に行い、標準 H S A 並 1_0 0 p g までを検出できた。

単篇例 5

5-1. $\alpha-\left(4-\left(N-サクシンイミドキシホルミルエチル\right) ピリジル <math>\}-8$. γ . $\delta-$ トリス $\left(4- ピリジル\right) ポルフィナトド <math>\alpha$ ($\frac{1}{2}$) $\frac{5}{2}$ の α

紙水酢酸 1 1.3 g、プロピオン酸 2 0 0 m lに4 ーピリジンカルボキシアルデミド 1 0.7 gを加え 1 2 0 でで加熱しながら、6.7 1 gのピロールを 1 0 分かけて摘下した。摘下後、2 時間 1 2 0 でで復作した後、室鍋にて放作し生にた 脱をが取し、メタノールおよび水で洗作しを繰した。この a、β、γ、βーテトラキス(4 ーピリジル)ボルフィン 1.0 gをピリジン 1 0 0 m lに溶解し、塩化質二酸 6 水和物 4 8 0 m gを加え 1 2 0 でで 1 6 時間加熱似作した。放作後、核圧

5 - 2. 化合物 <u>5</u>で抵譲したタンパク質の化学発 光抜による検出

災線例2と同様の操作によりHSAを用い化合物5で試験した。また、検出法6ルミノールを用

形解しヒドラジン 1 水創物 1 m 1 とパラジウム炭素 2 0 m sを加えて 2 時間退流した。反応物を評溢し評流を緩動し、得られた固体を水洗して乾燥し、化合物 6 を得た。

G - 2. 化合物 6 で標準した D N A の化学発光法による検出

実施例1と同様の操作により入ファージDNA を用い化合物 6 で保険した。また、検出法もルミ ノールを用い実施例1と同様に行い、保険DNA を用いて入ファージDNA量10psを検出でき た。

四沢魚ボルフィリン誘導体の一般的会成法

型換器R(Rは一般構造式中のXの形成に必要な任意の官能器)を有するペンズアルデヒド、ナオフェンカルボキシアルデヒド、フラアルデヒド、あるいはピリジルアルデヒドを有機酸性溶媒中で加熱しながら、等モルのピロールを調下する。有機酸性溶媒としてはプロピオン酸が一般に適当である。純下後、致時間加熱し、放冷後生じた此段物を严欺し、酢酸、水、あるいは有限溶媒で使得

い実施例2と月級に

数据用SA从10 p R

奖篇例6

6-1.α-(3-アミノ(2-チエニル))-B. r. 8-トリス(2-チエニル)ポルフィナ ト『c(量)<u>6</u>の合成

無水酢酸11.3g、アロピオン酸200ml
に2ーニトロー5ーナオフェンカルボキシアルデヒド3.92gおよび2ーナオフェンカルがキシアルデヒド8.41gを加え120℃で加熱下したがら、ピロール6.71gを10分かけては、下後、2時間120℃で放停した後、次のはでは、次夕にて放停し生じた沈殿を利取し酢酸おける。次夕にで放停した。得られた混合物は実施例1と間様にシリカゲルカラムクロマトグラブにより行気にシリカゲルカラムクロマトグラブにより行気にシリカゲルカラムクロマトグラブにより行気によりが水のほど、実施例1と間様のほででは、パイナト日(2ーチェニル)1-8.7.8-トリス(2-チェニル)1-8.7.8-トリス(2-チェニル)

LEBTS.

わられた四辺換ポルフィリンを等モルの任意の 金属型あるいは金属アセチルアセトナト類体等の 金属化合物と共に有機搭媒中で反応させる。 有機 溶媒としては静敏、ベンゼン、ピリジン等が一般 に適当である。反応快、溶媒を包去するか、ある いは生成した沈殿を伊取し水または有機溶媒によ る洗浄により特要する。

分子内の置換器Rは、そのままもしくは任意の官僚器に変換した後、一般構造式中のYとして記の官僚器に変換後、一般構造式中のXーしの形成に必要な試験と共に審集中で反応し、洗浄あるいはカラムクロマトグラフで精製する。御額を導入した場合、その末端官僚器は、そのままもしくは任意の官僚器に変換して一般構造式中のYとする。

一般構造式中のX-L-Yについてはそのうち の数値について実施例の項で評価を配す。

以下に合成した新規ポルフィリン語体化合物の 一部を示す。 α, β, γ, δーテトラ カルパモイルフェニル)ポルフィナトド c (1) 骨鉛色粘品

α, β. τ. δーテトラキス(4ーアミノエチル カルバモイルフェニル)ポルフィナトCr(型) 宏色結晶

α. β. τ. 8-テトラキス(4-アミノエチル カルバモイルフェニル)ポルフィナトM o(V) 骨紫色結晶

α、β、ァ、βーテトラキス(4ーホルミルプロ ビルアミドエチルカルバモイルフェニル)ポルフ ィナトドe(目) 対象色結晶

α、β、ァ、δーテトラキス(4 - ポルミルプロ ピルアミドエチルカルバモイルフェニル)ポルフ ィナトCr(目)弥集色結晶

α、β、ァ、δーチトラキス(4 - イソシアナト プロピルカルバモイルフェニル)ポルフィナト ドc(目)竹╣色新品

α、β、γ、δーテトラキス(4ーイソシアナト プロピルカルバモイルフェニル)ポルシィナト

ンイミドキシホルミルエチル) ピリジル) ポルフィナト Z n (I) 背景色結晶

a、 B、 r、 8 - テトラキス(3 - アミノエチル カルバモイル(2 - チエニル)| ポルフィナト Pe(II) 風景 色結晶

α、β、ァ、βーテトラキス(3ーアミノエチル カルバモイル(2ーフリル)) ポルフィナトFe (1) 背紫色新山

α、β、ァ、βーテトラキス(4 - (カルボキシ ブチルチオ)フェニル)ボルフィナトNi(I) 紫色筋晶

α、β、γ、βーテトラキス(4 - (カルボキシ エチルアミド) フェニル) ボルフィナト C u (1) 介衆色結晶

α、β、γ、δーテトラキス | 4 - (イソシアナトエチル) - 2、6 - ジクロロフェニル | ポルフィナトPe (II) 骨紫色結晶

α、β、γ、δーテトラキス(4 - (アミノエト キシカルボニル) フェニル | ポルフィナト M n (ii) 鉛色粧品 C o (1) 川村 ロ. 8. ア. 8 - テトラキス (4 - イソシアナト プロビルカルバモイルフェニル) ボルフィナト

乙n(Ⅱ)紫色結果

α、β、γ、βーテトラキス(4ーサクシンイミドキシホルミルエチルアミドフェニル)ポルフィナトドc () 以労色結晶

α、β、ァ、δーテトラキス(4ーサクシンイミ ドキシホルミルエチルアミドフェニル)ポルフィ ナトドc(Ⅱ)川 () 仏 () 仏

α、β、r、βーデトラキス(4ーサクシンイミドキシボルミルエチルアミドフェニル)ボルフィナト O s (2) 有架色結晶

α、β、ァ、βーテトラキス(4 - (N - サクシンイミドキシホルミルエチル)ピリジル)ポルフィナトFe (I) 背景色結晶

α. β. γ. δーテトラキス(4 - (N-サクシンイミドキシホルミルエチル)ピリジル)ポルフィナトMo (V) 衆色結晶

 α , β , γ , δ - γ -

災施例7

7-1、α、β、γ、δーテトラキス(4-アミ ノエチルカルバモイルフェニル)ポルフィナト Pc(貫)2の合成

4 → カルボキシベンズアルデヒドとピロールを 等モル川い、実施例1と同様の操作で合成した。 材質は熱酢酸による洗浄で行った。

7 - 2 . 化合物 <u>7</u>で環境した D N A の化学発光による検出

実施例1と同様の操作によりスファージDNAを用い化合物工で登録した。また、検出近6ルミノールを用い実施例1と同様に行い、振識DNAを用いてスファージDNA 及10 pgを検出できた。

安雄贸8

8-1. α、β、τ、δ-テトラキス (4-サク シンイミドキシホルミルエナルアミドフェニル) ポルフィナトPe (量)の合成

無水砂粒11.3 g、プロピオン数200 ml にp-ニトロベンズアルデヒド15.1 gを加え

120℃で加热しながら、 -N6.7188 10分かけて鎮下した。2時間120℃を保った 後、京道にて並洽し生じた結晶を評取し、酢酸お よびTHPで洗浄し乾燥した。この結晶1.0g をメタノール100mlに将解し、ヒドラジン1 水和物10m1とパラジウム炭粉100mgを加 え、2時間型液検促進し影液を消耗し、生じた固 **体を水洗し乾燥してα、β、γ、βーテトラキス** (4-アミノフェニル) ポルフィリンとした。こ の組体820mgも1.51の酢酸に磐飛し、塩 化第二族 6 水和物 3 6 0 mg および 監化水銀 1 0 m m を加え110℃で16時間加熱撹拌した。放 治後、生じた結晶を更取し酢酸で洗浄し乾燥した。 このポルフィリン鉄造体を50mg用いてTHP 5 m i に招解し、無水コハク酸523mgを加え 室温で24時間攪拌した。濃糖後、クロロホルム 5m1を加え沈設を护取し0.1Nの塩酸および 水で洗かし乾燥した。この塩化をDMF5mlに 飛かし、N-ヒドロキシコハク酸イミド36mg. DCC65mgを加えりでで2時間、のち蜜塩に

て24時間飛杯し 講像後、酢酸エナルに溶解 し不溶物を除き、再皮濃縮して化合物<u>品</u>を粉た。 8-2. 化合物<u>品</u>で機嫌したタンパク質の化学発 光生による検出

実施例2と同様の任作によりHSAを用い化合物量では減した。また、検出法もルミノールを用い実施例2と同様に行い、抵債HSA量1pgを 検出できた。

实施例9

9-1.α, β, r, δ-テトラキス(4-アミ ノエチルカルバモイルフェニル)ポルフィナト Co(I) <u>9</u>の合成

実施例7と同様の操作で合成した。但し、金具塩として塩化コバルト6水和物を用いた。 9-2. 化合物2で振葉したDNAの化学発光法による検出

実施例1と同様の操作により入ファージDNA を用い化合物 2 で模様した。また、検出徒もルミ ノールを用い実施例1と同様に行い、標準DNA を用いて入ファージDNA 2 10 Psを検出でき

た.

尖崖阴10

10-1.α.β.τ. 8-テトラキス(4-サ クシンイミドキシホルミルエチルアミドフェニル) ポルフィナトCr(E)<u>10</u>の合成

実施例 8 と同様の操作で合成した。但し、金属 塩として塩化クロム 6 水和物を用いた。

10-2. 化合物 <u>10</u>で誤踪したタンパク質の化学免光法による核出

実施例2と同様の操作によりHSAを用い化合 特10で意識した。また、検出法もルミノールを 用い実施例2と同様に行い、協議HSA及10 p ままでを検出できた。

実施例11

1 1 - 1 . α . β . γ . β - テトラキス (4 - N . - サクシンイミドキシホルミルエチルピリジル) ボルフィナトド e (E) の合成

実施例5により得られたα、β、ァ、βーテト ラキス(4 - ピリジル)ポルフィナトPe(目) 500mgと3~プロモプロピオン健エチル76 ○ m s を D M P 1 0 m 1 中 数 級で 2 4 時間反応させ、エーテル 1 0 0 m 1 を 加え生じた沈殿を护取した。得られた個体 1 0 0 m s を エタノール 3 0 m 1 に 形解し 1 M 水酸化カリウム水形液 0 ・ 4 0 m 1 を 加え、 室 級で 2 4 時間 限序した。 領統 後、 哲 石 健 水 移 液 ついて 水 で 洗 かし し に トロ キシサクシンイミド 2 0 m s 、 D C C 4 0 m s を 加えて 2 4 時間 限序した。 領統 使 か 数 エチルを 加え 不 符 物 を 評 過し、 評 統 を 資統 し ベン ゼンを 加え 不 符 物 を 評 過し、 評 被 を 資統 し ベ ク ン パク 質 の 化 学 免 光 法による 後 出

実施例2と可様の操作によりHSAを用い化合物11で保険した。また、検出徒もルミノールを用い実施例2と同様に行い、保険HSA重1pgでも検出できた。

突施例12

12-1.a.B.r.8-f.7+2.(3-7) 12-1.a.B.r.8-f.7+2.(3-7)

フィナトドe(Ⅱ)の合は

越水酢酸11,3g、プロピオン酸200m! に2-フラアルデヒド9、61gを加え120℃ で加熱しながら、ピロールら、71gを10分か けて強下した。消下後、2時間120℃で設打し た後、選組にて放冶し生じた沈殿を护取し、辞録 で洗浄し乾燥した。この固体750mgを1.5 1の作的に騒形し、単化第一鉄4水利物290m 8を加え120℃で4時間加热微拌した。飲冷後、 生じた結晶を摂取し酢酸で洗浄し乾燥した。この a. B. r. 8-テトラキス(2-フリル)ポル フィナトPe (1) 500mgを0℃でクロロス ルホン放5m1に少しずつ加え、2時間撹拌した。 これも100mlの水水に注ぎ、沈殿を炉取し水 洗し乾燥した。得られた結晶100mgを乾燥し たTHF20mlに溶解し、エチレンジアミン5 OOmgを加える時間監測で提择した。反応混合 物を水100mlに注ぎ、生じた沈殿を沪取し水 洗し乾燥して、化合物 12を得た。

12-2. 化合物 12 で課業した DNAの化学形

ア水中加熱してかりんを落下してがいまれた。これがいまれた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これができまれた。これができまれた。これができまれた。これができません。これができません。これができません。これができません。これができません。これがいかがいかがいかがいかがいた。これができません。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいた。これがいる。これがいた。これがいる。これ

分子内置換基及はそのまま、もしくは任意の官 能品に実換した後、一般構造式中のYとして用い るか、あるいは、そのまま、もしくは任意の官権 法に実験後、一般構造式中のX-Lの形成に必要 光法による検出

実施例1と同様の操作によりスファージDNA を用い化合物12で概義した。また、検出法もルミノールを用い実施例1と同様に行い、標準DNAを用いスファージDNAは10psを検出できた。

以取扱フタロシアニン誘導体の一般的合成法

な状態とともに常雄中で反応し、洗浄あるいはシ リカゲルカラムクロマトグラフで特質する、観新 を導入した場合、その末端官機器は、そのまま、 もしくは任意の官機器に交換して一般構造中のY とする。一般構造式中のX-L-Yについては、 そのうちの数種について実施例の項で詳細を記す。

以下に合成した新規四置換フタロジアニン類体化合物の一部を示す。

3 . 1 0 . 1 7 . 2 4 - テトラキス(アミノエチルカルパモイル)フタロシアナトFe(貝)風費 色結晶

3,10,17,24-テトラキス(アミノエケルカルバモイル)フタロシアナトCo(I) 以資 色結品

3.10.17.24ーテトラキス(アミノエチ ルカルバモイル)フタロシアナトCr(夏)以背 色版品

3.10.17.24-テトラキス(アミノエチ ルカルバモイル)フタロシアナトN1(I) 風音 色結晶 3.10.17.24-テ ロピルナミドエチルカルバモイル)フタロシアナトPe (量) 紫色結晶

3、10、17、24ーテトラキス(ホルミルブ ロピルアミドエチルカルバモイル)フタロシアナ トCr(3)劣色紡品

3.10.17.24ーテトラキス(ホルミルア ロピルアミドエチルカルバモイル)フタロシアナトCo(I) 対鉄色転品

3. 10. 17. 24ーテトラキス(サクシンイミドキシホルミルエチルアミド)フタロシアナト Mo(m) 以背色転品

3.10.17.24ーテトラキス(サクシンイミドキシホルミルエチルアミド)フタロシアナト てn(1)作色数品

3.10.17.24ーテトラキス(サクシンイ ミドキシホルミルエチルアミド)フタロシアナト Os (II) 竹袋色結晶

3, 10, 17, 24-テトラキス(サクシンイ ミドキシホルミルエチルアミド)フタロシアナト

Aを用いてスファージDNAD100psを検出できた。

奥斯朗14

14-1.3,10,17,24-テトラキス(サクシンイミドキシホルミルエチルアミド)フタロシアナトPe(目)の合成

Mo(目)以存色

尖旋倒13

1 3 - 1 · 3 · 1 0 · 1 7 · 2 1 - テトラキス (アミノエチルカルバモイル) フタロシアナト Fe (目) <u>1 3</u>の合成

13-2. 化合物 <u>13</u>で機能した DNAの化学発 光法による検出

実施例1と同様の操作によりスファージDNA を用い化合物<u>13</u>で保護した。また、検出法もル ミノールを用い実施例1と同様に行い、運搬DN

た。反応混合物を減額し、準能エチルを加えて不 存物を評議し、評議を減額し化合物<u>1.4</u>を得た。 1.4-2. 化合物<u>1.4</u>で係職したタンパク質の化 学免光法による検出

実施例2と同様の操作によりHSAを用い化合物14で抵抗した。また、検出後もルミノールを用い実施例2と同様に行い、保護HSA量100 Psまでを検出できた。

災监例15

15-1.3.10.17,24-テトラキス (アミノエチルカルバモイル)フタロシアナト Co(I)<u>15</u>の合収

実施例13と同様の操作で合成した。但し、金 異型として単化コパルト(1)を用いた。

15-2. 化合物 <u>15</u>で領域した DNAの化学発 光法による検出

実施図1と同様の操作により入ファージDNA を用い化合物<u>15</u>で模欺した。また、検出徒もルミノールを用いて実施例1と同様に行い、概律D NAを用いて入ファージDNA量100pgを検 出できた.

亚属剂16

16-1.3.10,17,24-テトラキス (サクシンイミドキシホルミルエチルアミド)フ タロシアナトMo(且)<u>16</u>の合成

実施例14と同様の操作で合成した。但し、企 展型として塩化モリブデンを用いた。

16-2. 化合物 <u>16</u>では難したタンパク質の化 学免光による検出

実施例2と同様の操作によりHSAを用い化合物16で様似した。また、検出法もルミノールを用い実施例2と同様に行い、概葉HSA及100psまでを検出できた。

一切カフタロシアニン誘導体の一般的合成法

図型換フタロシアニン誘導体の一般的合成法に 単じて辺損基限を有するフタロニトリル誘導体、 および、キシレンを出発物質として得られるフタ ロニトリルを合成する。これらを1:3のモル比 で加え、3一型換フタロシアニン誘導体を合成す る。物質は一般にシリカゲルカラムクロマトグラ

3-ホルミルプロピルアミドエチルカルパモイルフタロシアナトCr(量) 業色結晶

3 - ホルミルプロピルアミドエチルカルバモイル フタロシアナトM n (I) 脳骨色結晶

3 - イソシアナトエチルカルパモイルフクロシア ナトF c (I) 川界色鉱品

3 - イソシアナトエチルカルバモイルフタロシア

ナトMo(V)瓜紫色精晶

3 - イソシアナトエチルカルバモイルフタロシア ナトC r (E) 骨色結晶

3 - イソシアナトエチルカルバモイルフタロシア ナトC u (g) 以背色結晶

3 - イソシアナトエチルカルバモイルフタロシア ナトO s (E) 風骨色紋晶

实施例17

1 7 - 1 . 3 - アミノエチルカルバモイルフタロ シアナトPe(目)<u>1 7</u>の合成

一股合成法に従って合成した、3ーカルボキシフタロシアナトFe(I)を用い、実施例13と 関係の操作により化合物17を合成した。 フにより行う。 そのまま、あるいはRを任意の登録話に変換した後、一般構造式中のYとして用いるか、あるいは、そのまま、もしくは任意の宣傳話に変換後、一般構造式中のX~しの形成に必要な試薬とともに溶媒中で反応しカラムクロマトグラフにより特徴する。

一般構造式中のXーレーYについては、そのうちの数種について実施例の項で詳細を記す。

以下に合成した新規フタロシアニン語体化合物の一部を示す。

3 - アミノエチルカルバモイルフタロシアナト Fe (重) 風骨色転品

3-アミノエチルカルバモイルフタロシアナト.

NI(I) 風青色結晶

3 - アミノエチルカルバモイルフタロシアナト

Mn(I)温价色結晶

3 - ホルミルプロピルアミドエチルカルバモイル フタロシアナトPe(🛢) 紫色結晶

17-2. 化合物 <u>17</u>で原葉した DNAの化学発 光法による検出

実施例1と同様の操作によりスファージDNAを用い化合物17では激した。また、検出法5ルミノールを用い実施例1と同様に行い、振雅DNAを用いてスファージDNA量10pgを検出できた。

災施例18

18-1.3-イソシアナトエチルカルバモイル フタロシアナトFe (E) <u>18</u>の合成

一般合成化に従って合成した3ーカルボキシフクロシアナトPe(目)とエチレンジアミンをWSCで反応させることにより、実施例13と同様にして3ーアミノエチルカルバモイルフクロシアナトPe(目)を含成した。二級合してで3ーアミン1mlを加えた。その位1時間存住して生た仇数を評取し乾燥した後、クロロボルムに溶かした

特開平3-38587(13)

18-2. 化合物 <u>18</u>で構造したタンパク質の化 学発光法による検出

交通例2と同様の操作によりHSAを用い化合物18で低級した。また、検出法もルミノールを 川い実施例2と同様に行い、機能HSA量100 pgを検出できた。

安施例19

19-1.3-アミノエチルカルバモイルフタロ シアナトCu(1)<u>19</u>の合成

実施例1.3と同様の操作により合成した。但し、 金属塩として第二塩化鉛を用いた。

19-2. 化合物 <u>19</u>ではなした DNAの化学免 並近による検出

尖峰例1と同様の操作により入ファージDNA を用い化合物<u>19</u>で振躍した。また、検出法もル ミノールを用い突峰例1と同様に行い、振葉DN Aを用いてスファ NAEを100pgまで 検出できた。

尖雄例20

20-1.3-イソチオシアナトエチルカルバモ イルフタロシアナトCo(I)<u>21</u>の合成

実施例18と同様の操作により合成した。但し、 金鼠型として型化コバルトを用いた。

20-2. 化合物 <u>20</u>では減したタンパク質の化 学売光法による検出

実施例2と同様の操作によりHSAを用い化合物20で概念した。また、検出法もルミノールを用いて実施例2と同様に行い、概録HSA量100pgを検出できた。

以上

WEST

Generate Collection

Search Results - Record(s) 1 through 1 of 1 returned.

1. Document ID: <u>JP 03038587 A</u>

L1: Entry 1 of 1

File: DWPI

Feb 19, 1991

DERWENT-ACC-NO: 1991-092279

DERWENT-WEEK: 199113

COPYRIGHT 2000 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Stable labelled cpd. for catalysing oxidn. - is metal complex cpd. with porphyrin nucleus, used to determine trace amts. of nucleic acid or protein

PRIORITY-DATA:

1989JP-0171372

July 3, 1989

PATENT-FAMILY:

PUB-NO

PUB-DATE

LANGUAGE

PAGES

MAIN-IPC

JP 03038587 A

February 19, 1991

N/A

000

N/A

INT-CL (IPC): B01J 31/22; C07D 487/22

ABSTRACTED-PUB-NO: JP03038587A

BASIC-ABSTRACT:

Metal complex cpd. is of formula Z-(X-L-Y)n (n is 0-4 integer) where Z is metal complex of formula (I) contg. porphyrin nucleus. In (I): A-D are SP2 carbon or nitrogen, R1-R8 are -(CH)k-E or -(CH=CH)k-E (k is 0 or 1, R is H or OH, E is H, CHO, CO2H, or SO3H, and R,E may combine with X); and R1-R2, R3-R4, R5-R6, R7-R8 may be a benzene ring condensed to a pyrrole ring. Meso portion substituent groups RA-RD of formula (II), (III) or (IV), where T1-R5 is H, halogen, or alkyl gp. and one of them may combine with X; G is 0 or S, T6-T8 is H, halogen or alkyl gp. and one of them may combine with X; and T9-T13 is H, halogen or alkyl gp. and one of them may combine with X; and Q is halide anion, CH3SO4-OSO2CF3-OSO2F- or OSO2-CH3. Metal M is Fe, CR, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, or Os. X is a junction part of porphyrin nucleus and spacer L, and is -NHCO-, -CONH-, -NHSO2-, -SO2NH-, -COO-, etc. L is spacer which combines a functional gp. Y and X, and -(CH)m-, -(CH2CH2O)m- or -(OCH2CH2)m-, where R is H or OH, and m is 0-10 integer. Y is a functional gp. which covalently combines with a protein or a nucleic acid, or such a group as can be converted into the functional gp. USE/ADVANTAGE - Trace amts.of nucleic acid or protein can be determined by chemical luminescence. This cpd. is easily labelled, has small mol. wt. and is stable because no enzyme is used.



Generate Collection

Term	Documents
JP-03038587-\$	0
JP-03038587-A.DWPI.	1
JP-03038587-\$.DIDDWPI.	1

Display

100 Documents, starting with Document: 1

1

in MesCOH and the mixture llowed to react at room temp. for 2 h to give 56% $I(R^1 = Ph, R)$, $R^2 = Me, R^4 = Ph, X = O$. A total of 170 I were prepd. and 10 I at 10 g/10 are by preemergent application completely controlled 5 weeds, e.g. Echinochioa crus-galli and Monochoria vaginalis and gave no damage to rice seedlings.

SEVEN- AND HIGHER-MEMBERED RINGS

115: 92308a Preparation of pyrido [3,4-b]pyrrolo[1,2-e][1,4,5]= oxadiazepines as analgesics. Effland, Richard C.; Davia, Larry (Hoechst-Roussel Pharmaceuticals, Inc.) U.S. US 5,015,637 (Cl. 514-211; C07D273/06), 14 May 1991, Appl. 529,082, 25 May 1990; 5 pp. Title compds. [I; X = H, halo, alkyl; Y = X, alkoxy, CFs; R¹ =

H, alkyl, aryl, arylalkyl, dialkylaminoalkyl, Q1; R2, R3 = H, alkyl, aralkyl, were prepd. Thus, 4-chloro-3-fluoropyridine and N-(me=thylamino)pyrrole were refluxed 4 h in MercHOH contg. ethereal HCl to give N-(3-fluoro-4-pyridinyl)-N-methyl-1H-pyrrol-1-amine. The latter was formylated with POCls/MesNCHO followed by redn. with NaBH4 to give 1-(3-fluoro-4-pyridinylmethylamino)-1H-pyrrole-2-methanol. The latter was heated 2 h with NaH in DMF to give I (R1 = X = Y = H, R2 = Me) (II). II at 20 mg/kg s.c. in mice gave 58% inhibition of phenylquinone-induced writhing in mice.

115: 92309b Preparation of metal-porphyrin complexes catalyzing oxidation reaction as labeling agents for trace detection of DNA and proteins. Ueno, Keihei; Sagara, Fumio; Shiga, Tadanobu (Dojindo Laboratories) Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 03 38,587 [91 38,587] (Cl. C07D487/22), 19 Feb 1991, Appl. 89/171,372, 03 Jul 1989; 13 pp. The title compds. Z-[X-L-Y]a [1; Z

$$R^{1}$$
 R^{2}
 R^{1}
 R^{2}
 R^{3}
 R^{4}
 R^{5}
 R^{5

= residue of metal-porphyrin represented by (II); A-D = sp² C or N; R1-R3 = (CHR)AE, (CH:CH)AD; k = 0, 1; R = H, OH; E = H, CHO, CO2H, SO2H; R, E optionally being linked to X; or R1R3, R3R4, R3R4, R5R6, R7R3 = benzene ring fused to the pyrrole ring; A1,B1,C1D1 = Q, Q1, Q2; T1-T13 = H, halo, alkyl; one of T1-T13 optionally being linked to X; G = O, S; J- = H-, MeSO-r, CF2SO-r, FSO-r, FSO-r, p-MeCaH2SO-r; M = Fe, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Os; X = linking group between II and a spacer L selected from NHCO, CONH, NHSO2, SO2NH, CO2, OrC, CH2, CH:CH, O, S, CO, CS, NH, N:CH, CH:N, C:NH, C:NOH; L = (CHR)m, (CH2CH2O)m, (OCH3CH2)m; Y = functional group bonding to proteins or nucleic acids or group convertible to the functional group) are preped. Compds. such as proteins, oligopeptide, or DNA labeled with I catalyze oxidn. reaction with HrO2, perborate ion, or enzyme and can be detected in the proteins, oligopeptide, or DNA labeled with I catalyze oxidn. reaction with H₂O₂, perborate ion, or enzyme and can be detected in the presence of these oxidizing agents by (I) chemiluminescence in the copresence of a chemiluminescent agent, e.g. luminal deriva, and (2) formation of a dye in the copresence of an oxidative color coupler, e.g. aniline deriv. Thus, 6.71 pyrrole was added dropwise to a mirt. of AcyO 11.3, 4-HO₂CC₆H₄CHO 3.75, PhCHO 7.96, and 200 mL propionic acid at 120° over 10 min and then resultant mixt. was heated at 20° for 2 h to give, after purifn. by silica gel chromatog., α-(4-carboxyphenyl)-β,γ,δ-triphenylporphyrin (III), which (200 mg) was stirred with 90 mg FeCl₂-6H₂O and 5 mg HgCl₂ in 800 mL AcOH at 120° for 16 h to give III-Fe(III) complex. A soln. of 2.13 g the latter complex in THF/H₂O(1:1) was stirred with 3.1 g dimethyl=aminopropylethylcarbodiimide hydrochloride at room temp. for 24 h to give α-(4-saminosthylcarbamoylphenyl)-β,γ,δ-triphenylporphynt=e-Fe(III)(IV). IV was condensed with γ phage DNA and glutaraldehyde in H₂O to give IV-labeled λ phage DNA which was detected at a 10 pg level by chemiluminescence produced from H₂O₂ and luminol, on an polaroid instant film 612. A total of 20 I were prepd.

For papers of related interest see also Section:

1 84809z Cytotoxicity of Mannich bases of α-arylidene-β-ketoesters and related compounds against EMT6 mammary carcinoma cells.

84817a Pharmacomodulation of 7-(-2-methylenebutyryl)-2,3-=

dihydrobenzozazin-[1,4]-3-one structure and normolipemic activity.

84819c Acylphenothiazines and their dibenzazepine analogs: structure and antiarrhythmic activity.

formationally restricted polysubstituted by hangiotensin II receptors antagonist property.

Synthesis and schistosomicidal activity of 4-met. 84821 derivati 84864p (arylvinyl)-1,2-dithiole-3-thiones

(arylvinyl)-1,2-dithiole-3-thiones.
84855q Synthesis and antileishmanial activity of some
2-(dihydroxyalkyl) and 3-(dihydroxyalkoxy)pyrazolo[3,4-dipyloxyalkoxy]pyrazolo[3,4-dipyloxyalkoxy]pyrazolo[3,4-dipyloxyalkoxy]pyrazoloxyalkoxy]pyrazoloxyalk

and enzyme inhibitors.

85360h Synthesis and pharmacological properties of 3-a derivatives of isothiazolothieno-1,2,3-triazine.
4 87194f Metabolism of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidaz b]pyridine (PhIP) by liver microsomes and isolated rabbit cyl P450 isozymes.

5 87436m Synthesis and insect growth regulatory acti-

1-neopentyl-6-substituted imidazoles.

12 89448r Neamphine, a sulfur containing aromatic het isolated from the marine sponge Neamphius huxleyi.

21 91327u A direct synthesis of olefins by the reaction of compounds with lithio derivatives of 2-[alkyl- or 2'-alke

benzylsulfonyl]benzothiazoles. 22 Physical Organic Chemistry.

 24 91705r Synthesis and reactions of 3-carboxytropolone. Control to heterocycle-fused troponoid compounds.
 25 91736b Synthesis of α-substituted 1,2-benzenedimethana 91761f An efficient Cr-homologation of aromatic aldeby 5-hydroxyisoxazolidines.

26 91944t Study on the murexide reaction. V. 27 91982d Meldrum's acid as a reagent for synthesis of una

27 91932d Meidrum's acid as a reagent for synthesis of una γ-lactones and β-acylacrylic acids.
 29 92378y Stable N-phosphinyl nitrilimines: reactivity periphery of the nitrilimine skeleton.
 30 92541d Reaction of vitamin A with 1,2,4-triazoline-3,5-di
 31 92660j Synthesis of thieno[3,2-f]morphan, thieno[4,3-f]n and 3-thiamorphinan derivatives.
 29255a The chamistry of indoles.

92665q The chemistry of indoles. 55. Simple synth 1.3.4.5-tetrahydropyrrolo[4.3.2-de]quinoline and 5-hydroxy-4-ni (synthetic study for indoles having a nitrogen containing fu group at the 4-position).

92679x Models of folate cofactors. 22. Lewis acid co

cyclization of carbon-fragment transfer products of folate

cyclization of carbon-fragment transfer products of iolate models. Synthesis of enantiomerically pure tetracyclic (ABC system of Aspidosperma alkaloids.

92681s The synthesis of nitrogenous heterocycles via silver-cyclization of α-ketoimidoyl chlorides. An application synthesis of the crythrina and dendrobine alkaloid skeletal s

92683u Synthetic applications of 2-(1,3-dithian-2-yl)i III. A new route to tetracyclic [ABCD] intermediates cynthesis of Aspidosporms indels alkaloids.

synthesis of Aspidosperma indole alkaloids.

32 92692w 5-Vinyl-4-pentynoic acids through the palladium-c reaction of 4-pentynoic acid with vinyl triflates.

33 92762u A synthesis of 5,6-dihydrouracils in a sealed-to

their conformational analysis.

92780y Synthesis and antiviral activity of 3-substituted de of 3,9-dihydro-9-oxo-5H-imidazo[1,2-a]purines, tricyclic ar

acyclovir and ganciclovir.

92799m Part I. Aromatic annelations: synthesis of napht Part II. C-glycosyl anthraquinone synthesis: total syntivineomycinone B2 methyl ester.

92806m A new, regiospecific synthesis of anapterin and prim 92807n New strategy in the synthesis of neopterin phospl
34 92868h Amino acid amides of 2-[(2-aminobenzyl)sulfiny
imidazole as acid-stable prodrugs of potential inhibitors of ATPase.

63 78719d Characterization of the aqueous decomposition F of (+)1,2-bis(3,5-dioxopiperazinyl-1-yl)propane (ICRF-1 liquid chromatographic and mass spectral analysis.

68 79998f Ionization constants of some heterocyclic thiou some mixed solvents and at different ionic strengths and temp 72 80747e Electrochemical and chemical reduction of furopy

thienopyrazines, furoquinoxalines and thienoquinoxalines. 75 82603d Crystal and molecular structure of N-(o-chlorox sulfonyl)-N'-(4-methoxy-6-isopropyl-1,3,5-triazin-2-yl)v

sulfonyl)-N'-(4-methoxy-8-isopropyl-1,3,5-triaxin-2 y-representative sulfonylurea pesticide.

82606g Structure of an antipyrine-monophosphoric acid c
82607h 1,2,4-Trioxan-5-ones, a new class of endoper
structures of three representative derivatives.
82629s Structure of 6-allyl-3-hydroxymethyl-6,10b-dimetly
phenyl-2,3,5,6-tetrahydroisoquinolino[1,2-b][1,3]oxasol-5-oi
82652u Structure of 2-aminodinaphthol[2,1-d:1',2'-f][1,5
xaphosphepine-2-thione di-n-butylamine adduct.
82653v Structural investigations of benzo[c]cinnoline dei

82653v Structural investigations of benzo[c]cinnoline del III. Structure of 2-fluorobenzo[c]cinnoline.

82655x Platelet activating factor antagonists: N,N'-bis(3,4,5-trimethoxybenzoyl)-2-piperazinylmethyl thylpropanoate.

82656y Structure of 1,5-diselenoniabicyclo[3.3.0]octane b afluoroborate) acetonitrile solvate. 82660v Structure of the antiviral drug ethyl 4-12-[1-(6-22)

-pyridazinyl)-4-piperidinyljethoxylbenzoate. 82665a Structure of 2-N,N-dimethylamino-5-hexadecy

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

BLACK BORDERS

IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

FADED TEXT OR DRAWING

BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

SKEWED/SLANTED IMAGES

COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

GRAY SCALE DOCUMENTS

LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

☐ OTHER:

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.